

PRESS RELEASE

2026 年 9 月 2 日

理化学研究所
慶應義塾大学医学部

自己免疫疾患の「原因変異」を見極める新技術を開発

ークロマチンの開き具合を高精度に定量する「UNICHro-seq」ー

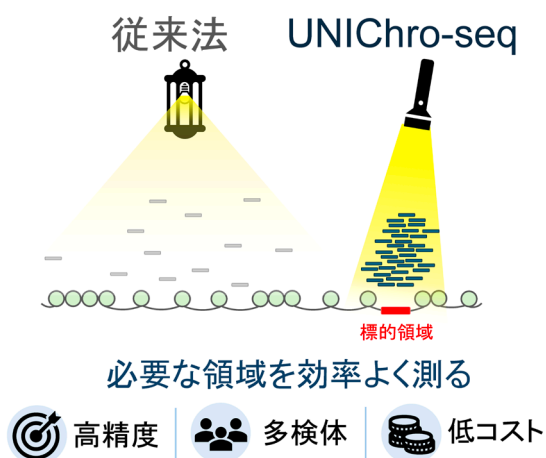
概要

理化学研究所（理研）生命医科学研究センターヒト免疫遺伝研究チームの石垣和慶チームディレクター（慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室教授）、自己免疫疾患研究チームの山本一彦チームディレクター、慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室の河野通大助教、波多野裕明助教らの共同研究グループは、標的とするゲノム領域のクロマチン^[1]の開き具合を高精度かつ効率的に定量する新手法「UNICHro-seq（ユニクロシーク）」を開発しました。

本研究成果は、自己免疫疾患^[2]の発症に関わる遺伝的変異^[3]の機能を明らかにし、疾患の発症メカニズムを解明する研究に貢献すると期待されます。

今回、共同研究グループは、標的とするゲノム領域由来の DNA だけを選択的に増幅し、個々の DNA 分子を数えることで、クロマチンの開き具合を高精度に測定できる UNICHro-seq を開発しました。この技術をゲノム編集技術と組み合わせ、自己免疫疾患発症の原因となり得る遺伝的変異（原因変異）の機能を効率的かつ高精度に検証することに成功しました。また、広く用いられているゲノム編集を用いた機能解析に潜む問題点を定量的に明らかにし、その解決法を実証しました。さらに、これらの手法を用いて、T 細胞^[4]の分化や働きに関わる *LEF1* 遺伝子の近傍にあるリスク変異が関節リウマチの発症に関わる分子機構の一端を実験的に示しました。

本研究は、科学雑誌『Nature Communications』オンライン版（8 月 21 日付）に掲載されました。



標的ゲノム領域のクロマチンの開き具合を効率的に測る UNICHro-seq

背景

ゲノムワイド関連解析^[5]により、関節リウマチや全身性エリテマトーデスなどの自己免疫疾患に関係する多数の遺伝的変異（リスク変異）がみつかっています。ゲノム上には、タンパク質の設計図となる遺伝子だけではなく、それらの遺伝子がいつ、どの程度働くかを調節する領域（遺伝子制御領域）も存在します。自己免疫疾患のリスク変異の多くは、遺伝子そのものではなく、このような遺伝子制御領域に存在します。そのため、それぞれのリスク変異が病気にどのように関わるのかを直接確かめることは容易ではありません。

細胞の核内では、DNA はヒストンなどのタンパク質に巻き付いた「クロマチン」という構造を取っています。遺伝子制御領域が働く際には、クロマチンが折り畳まれて強く閉じた状態から、転写因子などの遺伝子の働きを調節するタンパク質が DNA に結合できる開いた状態になる必要があります。クロマチンの開き具合は、遺伝子制御機能を調べる重要な指標で、その測定には網羅的オープンクロマチン領域解析（ATAC-seq）^[6]という手法が広く用いられています。しかし、ATAC-seq はゲノム全体を対象とするため、多くのシーケンス^[7]量、費用、実験操作を必要とする一方で、個々の候補領域から得られる情報は限られています。そのため、特定の領域を多数の細胞条件や時間点で詳しく調べるには、効率と精度の両面で課題がありました。

そこで共同研究グループは、ゲノム全体ではなく候補となる領域に由来する DNA を選択的に増幅し、そこから得られる情報量を大幅に増やすことで、少数の細胞からでもリスク変異の影響を高精度に測定する方法の開発を目指しました。

研究手法と成果

共同研究グループは、ATAC-seq の原理を基に、クロマチンの開いた領域の DNA だけを、試料を識別するためのバーコード配列と、個々の DNA 分子を識別するための固有分子識別子（UMI）^[8]を付加した形に断片化しました。次に、標的とするゲノム領域由来の DNA だけを段階的な PCR（ポリメラーゼ連鎖反応）で増幅し、複数の試料を混ぜて一度にシーケンスしました。解析時には、バーコード配列を基に各 DNA 断片がどの試料に由来するかを識別し、UMI を基に同じ分子に由来する重複を除くことで、開いたクロマチンに由来する DNA 分子の数を正確に数えられるようにしました。この新しい手法を「UNIChro-seq（ユニクロシーク）」と名付けました（図 1）。

UNIChro-seq

UNIque molecular identifier counting of regional
CHROmatin accessibility with SEQuencing

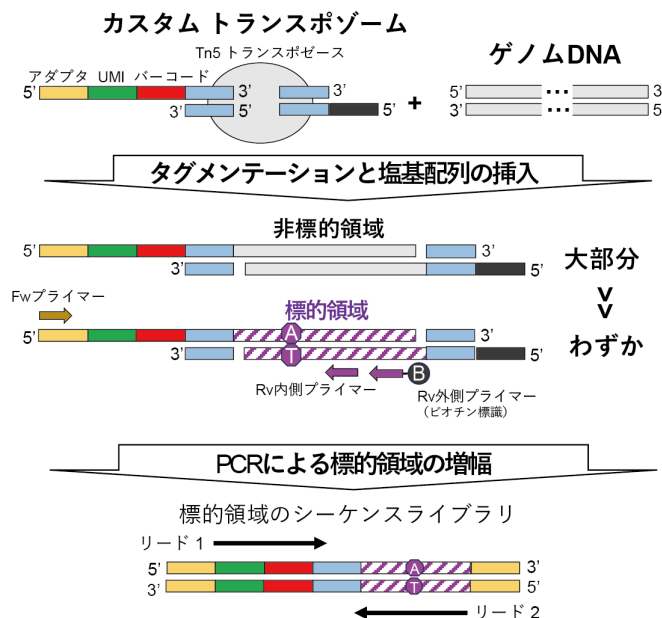


図 1 UNIChro-seq の原理

UNIChro-seq では、ATAC-seq の原理を基に、開いたクロマチンに由来する DNA 断片へ、試料を識別するためのバーコードと、個々の DNA 分子を識別するための固有分子識別子 (UMI) を付加する。標的領域は全 DNA 断片の中ではごくわずかであるが、標的領域に対する PCR により選択的に濃縮することで、標的領域のシーケンスライブラリを作製する。得られた配列情報から、バーコードを用いて試料を識別し、UMI を用いて同じ分子に由来する重複配列を除くことで、標的ゲノム領域のクロマチンの開き具合を定量する。

UNIChro-seq は、わずか 10 分子程度の微量な DNA を正確に捉えることができました。これは微量 DNA の高感度定量に用いられるデジタル PCR に近い水準です。また、従来法と比較して標的領域を約 3,800 倍濃縮し、限られた試料からでも高精度な情報を効率よく得られることを示しました。これにより、標的領域の解析に必要なシーケンスリード^[7]数を大幅に削減し、限られた試料からでも高精度な情報を効率よく得ることができます (図 2)。

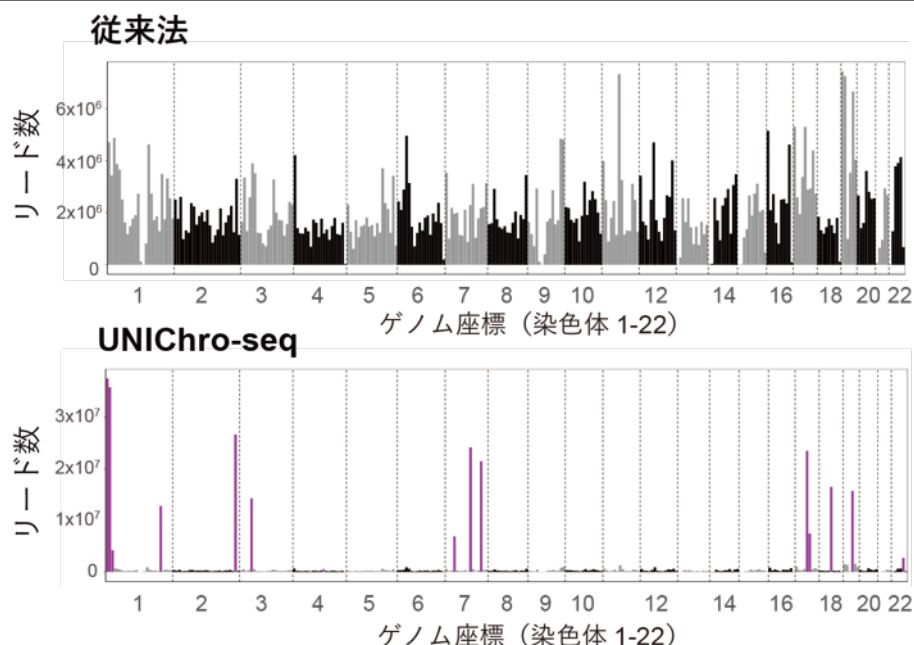


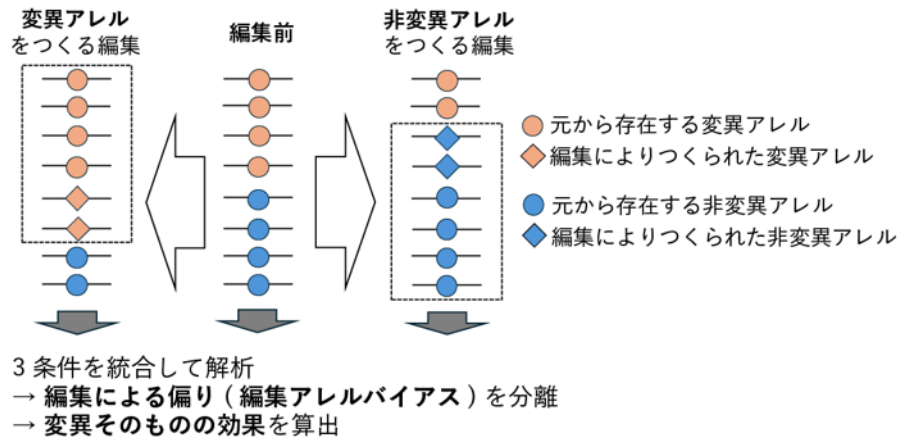
図 2 UNICHro-seq による標的領域の選択的濃縮

従来の網羅的オープンクロマチン領域解析 (ATAC-seq) では、シーケンスリードがゲノム全体に分散される。一方、UNICHro-seq では、標的ゲノム領域由来の DNA を選択的に増幅することで、リードを標的領域に集中させる。その結果、従来法と比べて標的領域を約 3,800 倍濃縮し、限られた試料からでも高精度な情報を効率よく得られることを示した。縦軸はリード数、横軸は染色体を示す。

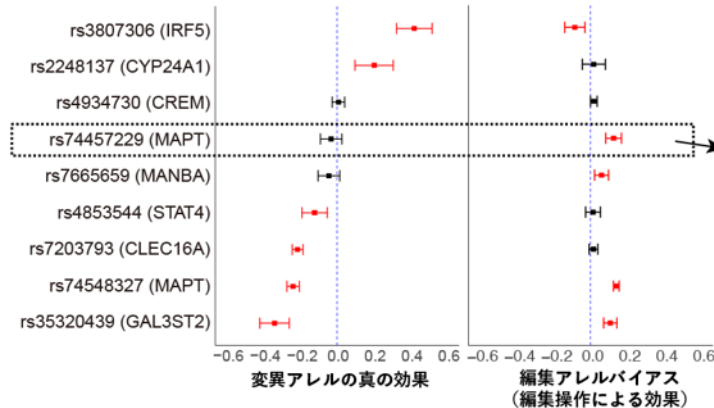
次に、全身性エリテマトーデスおよび関節リウマチに関連するリスク変異を対象に、B 細胞^[9]または CD4 陽性 T 細胞^[4]を活性化刺激後 0~72 時間にわたり UNICHro-seq を用いて解析しました。遺伝的変異がクロマチンの開き具合に及ぼす影響は、クロマチンアクセシビリティ量的形質遺伝子座 (caQTL) ^[10]効果と呼ばれます。UNICHro-seq により、少数の提供者から得た試料でも、多数の候補リスク変異の caQTL 効果を複数の時間点で効率よく定量でき、刺激に伴って効果が変化する変異も検出できました。

さらに、CRISPR ゲノム編集^[11]技術で人工的に導入した変異の効果を調べたところ、編集されたアレル^[12]に、塩基配列そのものが持つ真の効果とは別の影響が加わり、見かけ上クロマチンが開いた状態にあると評価される場合があることが分かりました。共同研究グループはこの現象を「編集アレルバイアス」と呼び、ある変異を導入する編集と、その変異を元の配列に戻す逆向きの編集をそれぞれ行い、両者の効果を比較することで、変異そのものの真の効果と編集操作による偏りを分離できることを示しました (図 3)。これによりゲノム編集そのものによる影響を区別しながら、遺伝的変異がクロマチンの開き具合に及ぼす影響をより正確に評価する方法を確立しました。

a 2種類のアレルを持つドナーでの双方向編集



b



c

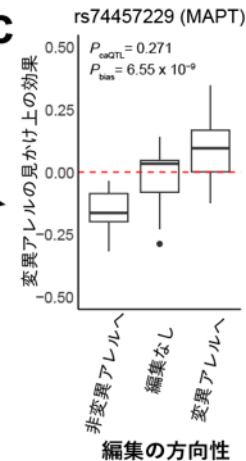


図3 双方向のゲノム編集により、変異そのものの真の効果と編集操作による偏りを分離

(a) 2種類のアレルを持つドナー由来の細胞を用いて、非変異アレルから変異アレルをつくる編集、編集前、変異アレルから非変異アレルをつくる編集の3条件を比較した。一方向のゲノム編集だけでは、変異そのものの効果に、編集されたアレルに生じる偏り（編集アレルバイアス）が加わり、見かけ上の効果として観測される場合がある。そこで、3条件を統合して解析することで、編集アレルバイアスと変異そのものの効果を分離して推定した。

(b) 複数の遺伝的変異について推定した変異アレルの真の効果と編集アレルバイアスを示す。赤点は統計学的に有意な効果、黒点は有意ではない効果を示す。青の破線は効果がないことを示す基準線（効果=0）を示す。

(c) 編集の向きによって見かけ上の効果が変わった例を示しており、一方向の編集だけでは変異そのものの効果を誤って解釈する可能性があることを示す。 P_{caQTL} : caQTL効果の統計学的有意性を示すP値、 P_{bias} : 編集アレルバイアスの統計学的有意性を示すP値。変異そのものの効果は統計学的に有意ではない一方、編集操作による偏りは強く認められた。赤の破線は効果がないことを示す基準線（効果=0）を示す。

この手法を、関節リウマチに関連する遺伝的変異 rs58107865 に応用しました。その結果、Gアレル（リスクアレル）は、LEF1遺伝子近傍のクロマチンの開き具合を低下させる方向に働き、その影響は特にナイーブCD4陽性T細胞^[4]で強いことが分かりました。また、関節リウマチ患者のナイーブCD4陽性T細胞

胞では、健常者と比べて *LEF1* 遺伝子の発現が低下していました。そこで、CD4 陽性 T 細胞における *LEF1* 遺伝子の発現を人工的に低下させて単細胞 CITE-seq^[13] などによる解析を行ったところ、活性化したナイーブ CD4 陽性 T 細胞が増加し、複数の疾患・免疫関連遺伝子の発現やクロマチンの状態が変化しました（図 4）。これらの結果から、rs58107865 のリスク変異による *LEF1* 遺伝子の発現低下が、関節リウマチの病態に関与する可能性が示されました。

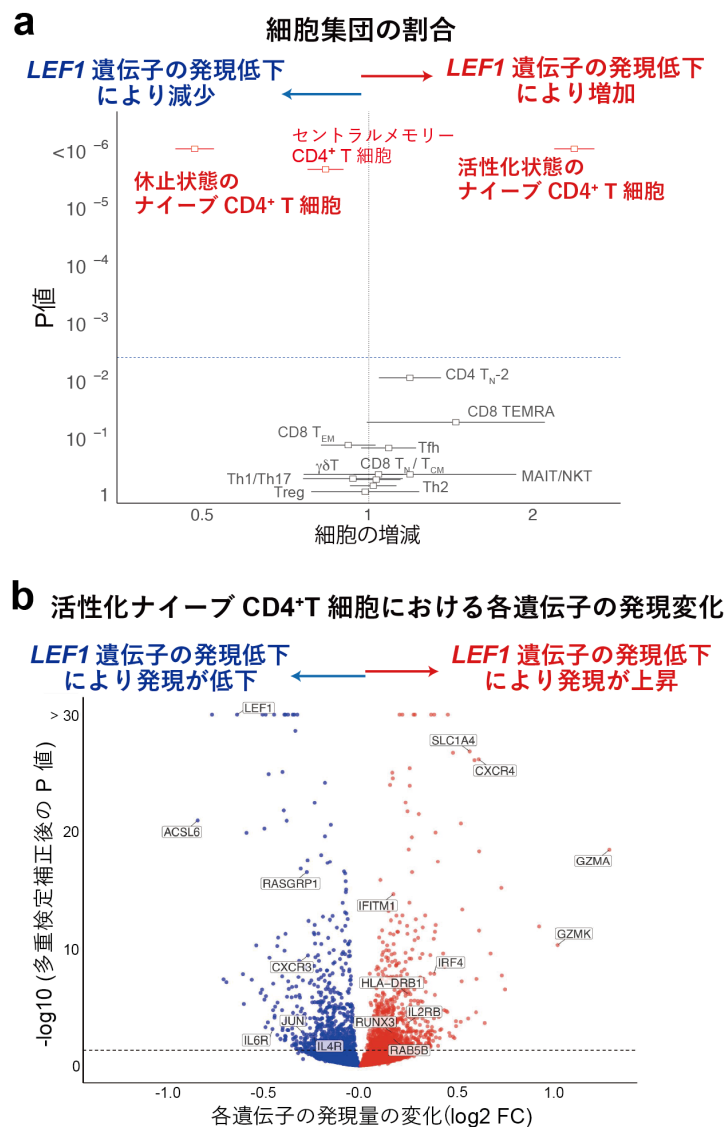


図 4 *LEF1* 遺伝子の発現低下によるナイーブ CD4 陽性 T 細胞の活性化と各遺伝子の発現変化

CD4 陽性 T 細胞における *LEF1* 遺伝子の発現を人工的に低下させ、48 時間後の細胞集団の割合と遺伝子発現を単細胞 CITE-seq で解析した。

(a) *LEF1* 遺伝子の発現低下による各細胞集団の増減を示す。*LEF1* 遺伝子の発現を低下させると、休息状態のナイーブ CD4 陽性 T 細胞が減少し、*HLA-DR* 遺伝子および *CD38* 遺伝子を発現する活性化状態のナイーブ CD4 陽性 T 細胞が増加した。

(b) 活性化状態のナイーブ CD4 陽性 T 細胞における各遺伝子の発現変化を示す。LEF1 遺伝子そのものの発現低下に加え、複数の免疫疾患関連遺伝子の発現が変化した。log2 FC: 遺伝子発現量の変化を示す値。0 は変化なし、正の値は発現上昇、負の値は発現低下を示す。

UNICHro-seq は、候補領域があらかじめ絞り込まれている場合に、少数の細胞、多数の試料、複数の時間点やゲノム編集条件を効率よく比較するための方法です。ゲノム全体を探索する ATAC-seq を置き換えるものではなく、探索後の候補を詳しく検証する手法として補完的に利用できます。

本研究では、新たに開発した手法である UNICHro-seq を用いて、自己免疫疾患リスク変異の機能を、細胞種や刺激後の時間変化まで含めて効率的に検証できることを示しました。特に、関節リウマチの候補リスク変異から LEF1 遺伝子の発現低下、ナイーブ CD4 陽性 T 細胞の状態変化へとつながる分子経路を示した点は、遺伝学的な発見を病態理解へ結び付ける一例です。

一方、ゲノム編集実験では、編集操作そのものが測定結果に影響する可能性があるため、一方向の編集結果だけで因果関係を判断すると誤解につながる場合があります。本研究で示した双方向編集と UNICHro-seq の組み合わせは、こうした偏りを見分けるための実践的な枠組みになります。

今後の期待

今後、ゲノムワイド解析で候補となった疾患関連リスク変異を、UNICHro-seq を用いて多数の細胞種、刺激条件、時間点で検証することで、これまで機能が不明だったリスク変異の働きを効率的に明らかにできると期待されます。また、患者由来細胞や治療前後の試料に応用し、特定領域のクロマチン状態を高感度に追跡することで、将来的には疾患の活動性、治療反応性、細胞状態を表す分子指標の開発につながる可能性があります。

UNICHro-seq は、ゲノム全体を探索する技術と組み合わせて、遺伝的変異から分子機能、細胞状態、疾患病態へとつながる過程を段階的に解明するための基盤技術として幅広い分野での活用が期待されます。

論文情報

<タイトル>

Accurate, sensitive, and efficient chromatin accessibility quantification at target loci using UNICHro-seq

<著者名>

Michihiro Kono, Hiroaki Hatano, Kenichiro Asahara, Masahiro Nakano, Reza Bagherzadeh, Tsugumi Kawashima, Takahiro Arakawa, Miho Sato, Hajime Inokuchi, Takahiro Nishino, Takahiro Itamiya, Haruka Takahashi, Bunki Natsumoto, Akari Suzuki, Kazuhiko Yamamoto, Kazuyoshi Ishigaki

<雑誌>

Nature Communications

<DOI>

[10.1038/s41467-026-75767-2](https://doi.org/10.1038/s41467-026-75767-2)

補足説明

[1] クロマチン

細胞の核内で、DNA がヒストンなどのタンパク質に巻き付いてつくられる構造。強く折り畳まれた閉じた状態では転写因子などの遺伝子の働きを調節するタンパク質が DNA に近づきにくく、開いた状態では結合しやすくなる。

[2] 自己免疫疾患

本来は細菌やウイルスなどから体を守る免疫系が、自分自身の細胞や組織を誤って攻撃することで生じる疾患。関節の変形や機能障害を特徴とする関節リウマチや皮膚、関節、腎臓、神経系など全身のさまざまな臓器に障害を呈する全身性エリテマトーデスなどが含まれる。

[3] 遺伝的変異

個人間で異なるゲノム DNA の塩基配列。疾患の発症しやすさに関係するものを、リスク変異と呼ぶ。

[4] T 細胞、CD4 陽性 T 細胞、ナイーブ CD4 陽性 T 細胞

T 細胞は、免疫細胞の一種で、主に CD4 陽性 T 細胞（ヘルパー T 細胞）と CD8 陽性 T 細胞（キラー T 細胞）に分けられる。CD4 陽性 T 細胞は、B 細胞（[9]参照）による抗体産生を助けるなど、他の免疫細胞の働きを調節する。関節リウマチでは、関節内の炎症や自己免疫反応の形成に関わる。まだ特定の抗原による刺激を受けていない CD4 陽性 T 細胞をナイーブ CD4 陽性 T 細胞と呼び、抗原刺激を受けると活性化し、さまざまな機能を持つ CD4 陽性 T 細胞へ分化する。

[5] ゲノムワイド関連解析

疾患や身長・体重などの形質と関連する遺伝的変異を、ゲノム全体にわたって網羅的に探索する手法。

[6] 網羅的オープンクロマチン領域解析（ATAC-seq）

開いたクロマチン領域に酵素を作用させ、そこから得られた DNA 断片を網羅的に解析する方法。細胞内のどのゲノム領域が開いているかをゲノム全体で調べられる。ATAC-seq は Assay for Transposase-Accessible Chromatin using sequencing の略。

[7] シーケンス、シーケンスリード

DNA や RNA を構成する塩基配列を読み取ること。シーケンスにより読み取られた個々の DNA 断片の配列情報をシーケンスリードと呼ぶ。特定のゲノム領域に割り当てられたリードの数が多いほど、その領域について多くの情報が得られていることを示す。

[8] 固有分子識別子（UMI）

個々の DNA 分子に付ける短い識別配列。同じ DNA 分子が PCR で何度も増幅されても元の 1 分子として数えられるため、PCR 増幅の偏りが分子数の定量に与える影響を抑えて分子数を正確に測定できる。UMI は Unique Molecular Identifier の略。

[9] B 細胞

免疫細胞の一種で、抗体を産生する細胞へ分化し、細菌やウイルスなどから体を守る。全身性エリテマトーデスでは、自己の成分に反応する抗体の産生などを通じて病態に関わる。

[10] クロマチンアクセシビリティ量的形質遺伝子座 (caQTL)

遺伝的変異によってクロマチンの開き具合が変化する現象、またはその変異とゲノム領域の関係を指す。疾患関連変異が遺伝子調節に与える影響を調べる手掛かりとなる。

[11] CRISPR ゲノム編集

標的とするゲノム配列を認識し、その塩基配列を人工的に変更する技術。細菌がウイルスに対抗するために備えている免疫システムを応用した編集技術で、細菌が侵入したウイルスの DNA を認識して切断する仕組みに由来し、標的配列へ誘導する RNA と DNA を切断する酵素を用いてゲノム配列の改変を行う技術である。CRISPR は Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats の略。本研究ではこの技術を疾患に関連する遺伝的変異の導入を目的として使用した。

[12] アレル

同じゲノム上の位置に存在する、異なる塩基配列の型。ヒトは原則として父親と母親から一つずつアレルを受け継ぐ。疾患の発症リスクを高める型をリスクアレル、低下させる型を保護アレルと呼ぶ。

[13] CITE-seq

単一細胞ごとに遺伝子発現と細胞表面タンパク質を同時に測定する手法。細胞の種類や状態を多面的に解析できる。CITE-seq は Cellular Indexing of Transcriptomes and Epitopes by Sequencing の略。

共同研究グループ

理化学研究所 生命医科学研究センター

ヒト免疫遺伝研究チーム

チームディレクター 石垣和慶 (イシガキ・カズヨシ)
(慶應義塾大学 医学部 微生物学・免疫学教室 教授)

自己免疫疾患研究チーム

チームディレクター 山本一彦 (ヤマモト・カズヒコ)
上級研究員 鈴木亜香里 (スズキ・アカリ)

慶應義塾大学 医学部 微生物学・免疫学教室

助教 河野通大 (コウノ・ミチヒロ)
(理研 生命医科学研究センター ヒト免疫遺伝研究チーム 客員研究員)
助教 波多野裕明 (ハタノ・ヒロアキ)
(理研 生命医科学研究センター ヒト免疫遺伝研究チーム 客員研究員)

研究支援

本研究は、日本医療研究開発機構 (AMED) 次世代医療実現バイオバンク利活用プロ

グラム（次世代医療実現推進プラットフォーム・創薬等出口につなげるデータ駆動型研究開発）「Polygenic risk score が生体に与える影響の評価に関する技術開発（研究代表者：石垣和慶）」、同免疫アレルギー疾患実用化研究事業「ゲノム編集技術を併用したリスク多型機能解析による関節リウマチの病態解明（研究代表者：石垣和慶）」、同ゲノム研究を創薬等出口に繋げる研究開発プログラム「バイオバンクを活用した T 細胞受容体配列情報に基づく関節リウマチの新規診断マーカーの同定（研究代表者：石垣和慶）」、同免疫アレルギー疾患実用化研究事業「関節リウマチにおける HLA 遺伝子多型と喫煙の相互作用による T 細胞レベルの免疫寛容破綻の全容解明（研究代表者：石垣和慶）」、同生命科学・創薬研究支援基盤事業（BINDS）「生体試料を用いた大規模機能ゲノミクス解析支援及びヒト免疫機能評価基盤の高度化（研究代表者：桃沢幸秀）」、同 SCARDA ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点形成事業「遺伝的多様性と機能に関するマルチオミックスを中心としたヒト免疫評価法の確立と支援の為にサポート機関（研究代表者：山本一彦）」、日本学術振興会（JSPS）科学研究費助成事業基盤研究（B）「自己免疫疾患のリスク多型機能解析による個別化抗サイトカイン療法の確立（研究代表者：石垣和慶、JP22H03114）」、同研究活動スタート支援「自己免疫疾患のリスク多型の機能を制御する転写因子の探索（研究代表者：石垣和慶、JP21K20647）」、同若手研究「ゲノム編集技術とターゲット解析を駆使した関節リウマチリスク多型機能解析（研究代表者：河野通大、JP25K19621）」、慶應義塾大学学事振興資金、次世代研究プロジェクト推進プログラム、GSK ジャパン研究助成 2021、第一三共生命科学研究振興財団、持田記念医学薬学振興財団、上原記念生命科学財団、および武田薬品工業 COCKPI-T Funding による助成を受けて行われました。

発表者・機関窓口

<発表者> ※研究内容については発表者にお問い合わせください。

理化学研究所 生命医科学研究センター

ヒト免疫遺伝研究チーム

チームディレクター 石垣和慶 （イシガキ・カズヨシ）
（慶應義塾大学 医学部 微生物学・免疫学教室 教授）

自己免疫疾患研究チーム

チームディレクター 山本一彦 （ヤマモト・カズヒコ）

慶應義塾大学 医学部

微生物学・免疫学教室

助教

河野通大 （コウノ・ミチヒロ）

助教

波多野裕明 （ハタノ・ヒロアキ）

<機関窓口>

理化学研究所 広報部 報道担当

Tel: 050-3495-0247 Email: ex-press@ml.riken.jp

慶應義塾大学 信濃町キャンパス 総務課

Tel: 03-5363-3611 Email: med-koho@adst.keio.ac.jp